



ARTIGO

O processo da ginosporogênese e ginogametogênese de *Passiflora suberosa* L. (Passifloraceae)

Adriano Silvério¹, Sonia Beatriz Fernandes de Almeida Tormes¹ e Jorge Ernesto de Araujo Mariath^{1,2*}

Submetido em: 25 de janeiro de 2008 Recebido após 1ª revisão em: 30 de setembro de 2008

Recebido após 2ª revisão em: 12 de março de 2009 Aceito em: 16 de março de 2009

Disponível em: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/979>

RESUMO: (O processo da ginosporogênese e ginogametogênese de *Passiflora suberosa* L. (Passifloraceae)). A família Passifloraceae conta com cerca de 750 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, com a maioria de suas espécies exclusivamente americanas. Visando um maior conhecimento da biologia de suas espécies e o detalhamento da ontogênese de estruturas reprodutivas, cujas variações podem fornecer dados importantes para a delimitação de grupos taxonômicos relacionados dentro de uma mesma família ou gênero, o presente trabalho tem por objetivo descrever a ginosporogênese e formação do saco embrionário de *Passiflora suberosa*. Os tegumentos formam-se através de divisões periclinais da camada dérmica. A inicial subdérmica divide-se periclinamente formando a célula parietal primária e a célula arqueosporial. A célula arqueosporial divide-se mitoticamente e somente uma célula inicia o processo meiótico, dando origem a uma tétrade linear de ginósporos. O ginósporo funcional calazal sofre cariocinese e citocinese formando um ginófito do tipo *Polygonum*, com antípodas efêmeras e núcleo secundário próximo ao aparelho oosférico. O nucelo apresenta grande quantidade de grãos de amido durante a antese. Os rudimentos seminais são arilados, anátropos, bitegumentados e crassinucelados, com micrópila em zig-zag. Algumas das características morfológicas verificadas correspondem a novos caracteres embriológicos importantes para a taxonomia do gênero *Passiflora*.

Palavras-chave: tegumentos, nucelo, ginosporogênese, ginogametogênese, *Passiflora*

ABSTRACT: (The process of ginosporogenesis and ginogametogenesis of *Passiflora suberosa* L. (Passifloraceae)). The Passifloraceae family contains about 750 species, distributed in tropical and subtropical regions. Most of their species is exclusively from the American continent. Aiming a better knowledge of Passifloraceae species biology as well as details of the ontogenesis their reproductive structures, which variations can support important data for delimited taxonomic groups inside the same family or genera, the present work aims to describe the ginosporogenesis and embryo sac development of *Passiflora suberosa*. The integuments develop by periclinal divisions of the dermal layer, and the subdermal initial cell divides periclinally to originate the primary parietal cell and the archesporial cell. The archesporial cell suffers mitosis and only one cell undergoes meiosis that gives rise to a linear ginospore tetrad. The functional chalazal ginospore suffers karyokinesis and cytokinesis and develops into a *Polygonum* type embryo sac with ephemeral antipodal and a secondary nucleus near the egg cell apparatus. The nucellus shows many starch grains at anthesis. The ovule is arillate, anatropous, bitegmatic, crassinucellate, with a zig-zag micropyle. Variations of morphological aspects highlight new important embryological characters to the taxonomic treatment to *Passiflora* genera.

Key words: integuments, nucellus, ginosporogenesis, ginogametogenesis, *Passiflora*

INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae conta com cerca de 17 gêneros e aproximadamente 750 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo (Feuillet & MacDougal 2007). Destes gêneros, cinco ocorrem no novo mundo e quatro são exclusivamente americanos (Deginani 2001), sendo a América do Sul o principal centro de distribuição do gênero *Passiflora*, principalmente a região centro norte do Brasil (Killip 1938).

Várias espécies de *Passiflora* são cultivadas pelo uso alimentar, ornamental e/ou pelas suas propriedades medicinais (Hoehne 1922, Killip 1938, Sacco 1980). Entre as propriedades medicinais destacam-se a presença de compostos químicos de natureza diversa, como fenóis, alcalóides, flavonóides glicosilados e compostos cianogênicos (Dhawan *et al.* 2004).

Passiflora suberosa L. está classificada no sub-

gênero *Decaloba*, dentre os 22 sub-gêneros citados por Killip (1938), e no clado *Decaloba*, de acordo com os dados obtidos com a análise baseada em marcadores moleculares (Muschner *et al.* 2003, Hansen *et al.* 2006). Nesses trabalhos, são analisadas inúmeras espécies do gênero, incluídas nos 22 sub-gêneros propostos por Killip (1938). Esses autores ainda destacam a necessidade de ampliação das análises em sub-gêneros ainda não abordados e em sub-gêneros grandes como *Decaloba*, sendo necessário aumentar a quantidade de seqüências analisadas para esclarecer questões como a monofilia do gênero *Passiflora* e sua relação com a maioria dos clados, bem como com outros gêneros de Passifloraceae. Além disso, destacam a importância da compreensão das causas que levaram a diferentes estratégias evolutivas encontradas entre a maioria dos clados de *Passiflora*.

Os caracteres embriológicos, assim como os morfológicos, apresentam potencial taxonômico que

1. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Botânica, Laboratório de Anatomia Vegetal. Av. Bento Gonçalves 9500, Prédio 43423, sala 201, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

2. Bolsista Produtividade em Pesquisa/CNPq.

*Autor para contato. E-mail: jorge.mariath@ufrgs.br

podem ser utilizados na comparação entre taxons distintos. A análise de rudimentos seminais apresenta grande importância por apresentar inúmeras estruturas que podem ser analisadas e comparadas como a sua morfologia, número de tegumentos, tipo de nucelo (Davis 1966), e por se tratarem de tecidos do esporófito precursores da futura semente (Bouman 1984). Esses estudos ontogenéticos comparativos de órgãos reprodutivos podem fornecer informações úteis na delimitação de grupos taxonômicos relacionados dentro de uma mesma família ou gênero, como em *Glycine max* e *Phaseolus aureus* (George *et al.* 1979) ou *Cytisus striatus* e *C. multiflorus* (Riaño *et al.* 2006), respectivamente, bem como em casos que envolvam plantas de ordens distintas (Tobe *et al.* 1993).

Nessa perspectiva o presente trabalho tem por objetivo elucidar os processos ontogenéticos da ginospogênese, da ginogametogênese e da formação do rudimento seminal de *Passiflora suberosa*, a fim de descrever suas diferentes fases, bem como fornecer caracteres que possam ser úteis ao tratamento taxonômico do gênero, e da espécie em questão.

MATERIAIS E MÉTODOS

Botões florais de *Passiflora suberosa* L. foram coletados no campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na cidade de Porto Alegre, sendo o material testemunho registrado no herbário ICN, sob o número 152427. Anteras e ovários foram dissecados e fixados em solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell & Trump 1976) em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2, desidratados em etanol e incluídos em hidroxietilmetacrilato (Gerrits & Smid 1983). Ovários em diversas fases do desenvolvimento foram seccionados transversal e longitudinalmente, com espessura entre 2 e 4 µm, em micrótomo Mikron Zeiss. A coloração foi realizada com Azul de Toluidina O 0,05%, pH 4,4 (Feder & O'Brien 1968) por se constituir em um corante metacromático e capaz de evidenciar ácidos pécicos, dentre outros compostos (O'Brien & McCully 1981). O material foi analisado em microscopia de campo claro e o respectivo registro fotomicrográfico realizado em microscópio Olympus BX41. Foram realizados testes histoquímicos para a detecção de amido, com lugol (Johnsen 1940), e para a detecção de calose, com Azul de Anilina, sob excitação com luz ultravioleta, com auxílio de filtro UV de 340-380 nm (Martin 1959), em microscópio Leica DMR-HC, seguido de registro fotomicrográfico. O material analisado em microscopia

eletrônica de varredura foi desidratado em série etílica e seco através de método de ponto crítico (Gersterberger & Leins 1978), com uso do aparelho Balzers CPD 030 e recoberto com ouro utilizando-se metalizador modelo Balzers SCD 050. O registro eletromicrográfico digital foi realizado em microscópio eletrônico de varredura JEOL 6060.

RESULTADOS

Formação dos Rudimentos Seminais

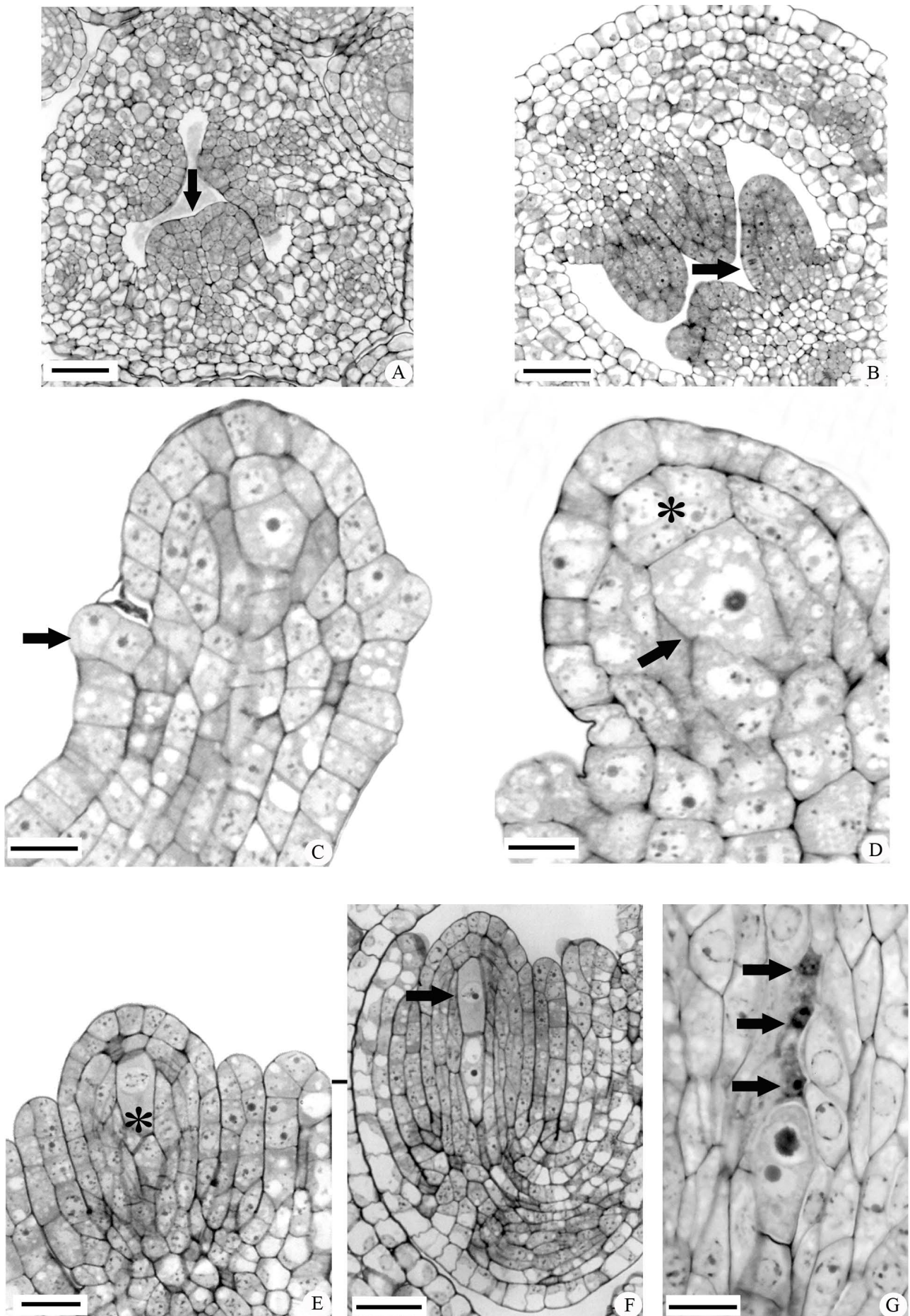
O ovário de *P. suberosa* é tricarpelar, unilocular e de placentação parietal. Os primórdios dos rudimentos seminais emergem de três zonas placentárias opostas aos feixes procambiais ventrais da parede do ovário (Fig. 1A). Cada placenta apresenta estrutura trizonada, com camada dérmica, subdérmica e central de onde posteriormente emergirão os rudimentos seminais. Divisões anticlinais na camada dérmica acompanham o desenvolvimento do primórdio em sua expansão em direção ao interior do lóculo. O rudimento seminal apresenta também uma estrutura trizonada em sua fase inicial, com uma camada dérmica, uma camada subdérmica e um grupo central de células (Fig. 1B).

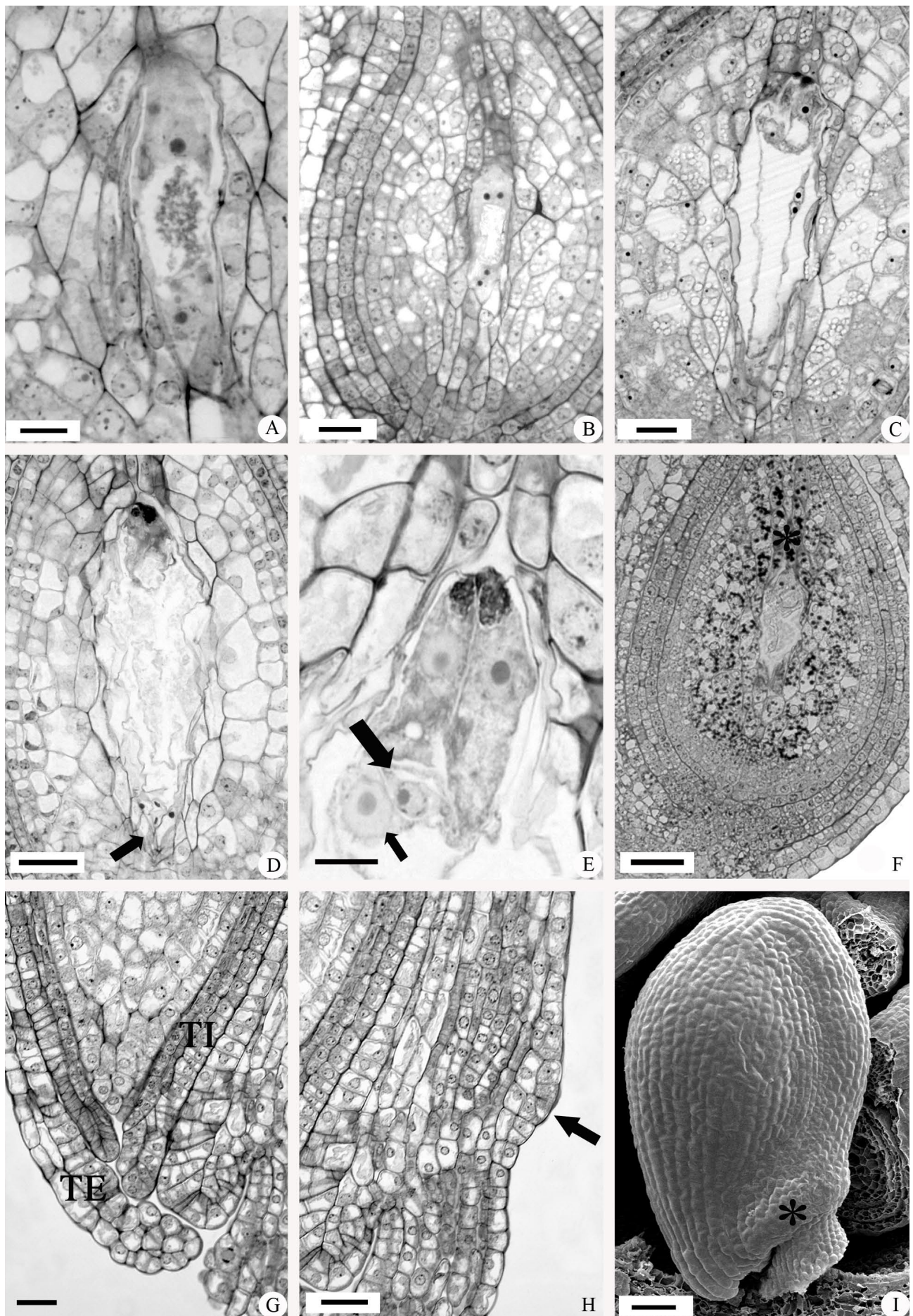
Uma célula da camada subdérmica aumenta seu volume, destacando-se das demais, e divide-se periclinamente dando origem a uma célula contígua à epiderme nucelar, denominada célula parietal primária, e outra em contato direto com a camada central, denominada célula arquesporial, caracterizando o nucelo como do tipo crassinucelar. As divisões periclinais da camada dérmica sinalizam a emergência do tegumento interno, delimitando o tecido nucelar na porção apical, enquanto que o tegumento externo inicia sua diferenciação logo abaixo desta região, a partir de células dérmicas que experimentam expansão celular pré-mitótica (Fig. 1C).

As divisões que se sucedem para a formação dos tegumentos são mais pronunciadas numa das faces do funículo, acompanhando a curvatura anátropa do rudimento, mas sem participar do processo. Na sequência do desenvolvimento, a projeção dos tegumentos se torna contínua ao redor do nucelo (Fig. 1E,F).

No ápice nucelar, a célula parietal primária divide-se no plano anticlinal formando outras duas células que, por clivagem periclinar, contribuem para o incremento no número de estratos celulares entre a célula arquesporial e a epiderme nucelar (Fig. 1D), sendo o crescimento longitudinal do órgão como um todo acompanhado também por divisões periclinais e anticlinais nas camadas

Figura 1 (página seguinte). Formação do rudimento seminal e ginospogênese de *Passiflora suberosa*. A. Projeção dos primórdios dos rudimentos no interior do lóculo (seta). Barra: 40 µm. B. Rudimentos seminais jovens onde percebe-se divisões anticlinais na camada dérmica (seta). Barra: 20 µm. C. Rudimento seminal jovem e divisões periclinais da camada dérmica no início da formação do tegumento interno (seta). Barra: 20 µm. D. Célula arquesporial em detalhe (seta) e formação dos estratos parietais do nucelo (asterisco). Barra: 15 µm. E. Célula arquesporial com núcleo iniciando o processo mitótico com condensação da cromatina (asterisco) e detalhe dos tegumentos jovens. Barra: 30 µm. F. Célula arquesporial iniciando o processo meiótico com condensação da cromatina (seta) e célula somática em interfase. Barra: 30 µm. G. Tétrade de ginósporos com esporos em degradação (setas) e um funcional (seta). Barra: 15 µm.





celulas nucelares laterais à célula arquesporial (Fig. 1D-F).

Ginosporogênese

A célula inicial arquesporial sofre uma expansão no sentido longitudinal (Fig. 1E) e divide-se formando duas células, das quais apenas a célula do pólo distal inicia o processo meiótico, enquanto que a proximal mantém-se interfásica e com seu núcleo posicionado entre grandes vacúolos (Fig. 1F), dividindo-se mitoticamente e formando dessa forma, células da porção basal do nucelo (Fig. 1G). O arquespório é unicelular (Fig. 1F) e à medida em que o nucelo se expande, o ápice do tegumento externo ultrapassa o interno, aproximando-se do topo nucelar. Ambos os tegumentos apresentam dois estratos, exceto o externo, com uma terceira camada na região apical. As células deste tegumento são maiores e mais vacuoladas que as do tegumento interno. As células nucelares não apresentam substâncias de reserva em seus citoplasmas (Fig. 1F).

O processo esporogênico resulta numa tétrade linear, sendo funcional somente o megásporo calazal (Fig. 1G).

Ginogametogênese

A célula-mãe do gametófito feminino apresenta núcleo relativamente volumoso e hialino, com nucléolo conspicuo, posicionado próximo ao centro da célula e com vacúolos em ambos os pólos, sendo que o de posição micropilar parece conter maior quantidade de material polissacarídico. Os três ginósporos não-funcionais degeneram-se, o que é evidenciado por seus núcleos picnóticos e citoplasmas em processo de lise (Fig. 1G).

O primeiro ciclo mitótico forma um gametófito binucleado, cujos núcleos se posicionam em pólos opostos da célula, separados por um grande vacúolo central, que mantém o conteúdo polissacarídico, agora com aspecto granuloso (Fig. 2A). Nessa fase, o nucelo atinge seu máximo desenvolvimento, estando constituído por cerca de seis a sete camadas de células, e os tegumentos estão completamente constituídos, ambos participando da formação da micrópila.

Após o segundo ciclo mitótico, o ginófito passa a conter quatro núcleos, dispostos no sentido ortogonal e agrupados dois a dois, sendo os do pólo calazal alinhados no sentido longitudinal da célula, e os micropilares orientados transversalmente. Esses dois grupos de núcleos estão separados por um grande vacúolo central (Fig. 2B). A partir dessa etapa, as células da porção apical

e lateral do nucelo passam a acumular amido.

O ginófito maduro é do tipo *Poligonum*, constituído por três antípodas efêmeras (Fig. 2D), com núcleos picnóticos no botão floral em pré-antese, uma célula média amplamente vacuolada, ocupando a maior extensão do ginófito, com dois núcleos polares posicionados na região central (Fig. 2C), os quais antes da antese formam o núcleo secundário, localizado próximo da porção micropilar e, por fim, o aparelho oosférico, constituído por duas sinérgides, com aparelho fibrilar desenvolvido e restrito a extremidade micropilar, e uma oosfera, com núcleo conspicuo (Fig. 2E).

O nucelo apresenta grande quantidade de amido armazenado em suas células, concentrando-se principalmente em toda sua região apical e nas camadas mais internas das regiões lateral e basal, envolvendo todo o gametófito feminino (Fig. 2F).

Rudimento seminal maduro

O rudimento seminal maduro possui o tegumento externo composto por duas camadas celulares ao longo de sua maior extensão, quatro na porção apical contígua ao funículo e três em sua porção oposta, apresentando maior espessura na região micropilar (Fig. 2G).

O rudimento seminal contém um único feixe vascular funicular que alcança a região calazal e uma micrópila em zig-zag, formada por ambos os tegumentos (Fig. 2G). Em secção longitudinal, percebe-se que o endóstoma é formado por ambos os tegumentos, como consequência da maior projeção do tegumento interno na sua porção funicular, alcançando o tegumento externo na porção oposta, enquanto que o exóstoma é formado somente pelo tegumento externo, com o poro micropilar voltado para a porção funicular (Fig. 2 G e I).

Divisões periclinais na camada dérmica do rudimento seminal maduro formam uma pequena projeção circular contornando a rafe (Fig. 2H e I). Essa protuberância posteriormente dá origem a um arilo suculento que envolve a semente madura.

DISCUSSÃO

A projeção dos rudimentos seminais a partir da parede do ovário está de acordo com o proposto para a família Passifloraceae, sendo essa uma das principais características dos representantes das famílias que compõem a ordem Violales (APG II, 2003). A ocorrência de uma estrutura trizonada no desenvolvimento inicial é

Figura 2 (página anterior). Ginogametogênese e rudimento seminal maduro de *Passiflora suberosa*. A. Ginófito binucleado com vacúolo central. Barra: 10 µm. B. Fotomontagem do ginófito tetranucleado com núcleos em pólos opostos e em disposição ortogonal. Barra: 20 µm. C. Núcleos da célula média ainda na região mediana da célula e não-fusionados. Barra: 40 µm. D. secção longitudinal do ginófito adulto, com destaque as antípodas no pólo calazal (seta). Barra 30 µm. E. Aparelho oosférico com oosfera (seta), sinérgides com aparelho fibrilar proeminente e célula média com núcleo secundário (seta menor). Barra: 10 µm. F. Nucelo com células contendo amido em seu interior (asterisco). Barra: 20 µm. G. Seção longitudinal do rudimento seminal maduro com destaque para a formação da micrópila. Barra 20 µm. H. Detalhe das divisões iniciais, na base do funículo, formadoras do arilo. Barra: 30 µm. I. Eletromicrografia do rudimento seminal anátropo com projeção do arilo funicular (asterisco). Barra: 100 µm. Abreviaturas: TE, tegumento externo; TI, tegumento interno.

comum em várias famílias de Angiospermas, onde vários autores citam a projeção dos rudimentos seminais através de divisões periclinais da camada central (Bouman 1984, Bittencourt & Mariath 2002, De toni & Mariath 2003). No presente trabalho, essas divisões foram detectadas durante o processo de formação e alongamento do rudimento seminal em sua fase primordial. A camada subdérmica divide-se mais intensamente participando da formação do nucelo, enquanto que as mais internas, da terceira camada, participam da formação do funículo. Em *P. suberosa*, o processo simultâneo de formação dos tegumentos e a diferenciação da inicial arquesporial são semelhantes ao observado em *P. calcarata* (Raju 1962).

A condição bitegumentada é considerada primitiva dentro das Angiospermas, sendo o número de tegumentos e sua origem, características de grande valor taxonômico (Warming 1878, Bouman 1971, Bouman & Calis 1977, Bouman 1984). Bouman (1984) considera que o tegumento externo é originalmente de derivação subdérmica e que a sua dermalização ocorreu diversas vezes durante a evolução das Angiospermas. Em *P. suberosa*, os dois tegumentos formam-se exclusivamente a partir de divisões periclinais da camada dérmica, sem a participação de células derivadas de outras camadas. Assim, o tegumento interno inicia seu desenvolvimento primeiro, sendo seguido pelo externo, diferindo do encontrado por Dathan & Singh (1973), onde o surgimento dos tegumentos é simultâneo. Padhye & Deshpande (1960) e Singh (1962) relatam o surgimento dos tegumentos próximo a região apical do nucelo sem, no entanto, relacionar quais camadas celulares participam do processo.

Os esporângios das Angiospermas são caracterizados pela presença de estratos estéreis e férteis. Em *P. suberosa*, o padrão de divisão celular, formador das camadas do crassinucelo, é constituído principalmente por divisões periclinais, e se estende a partir da célula parietal primária e suas derivadas em um gradiente do ápice para a região lateral do nucelo. Por outro lado, a célula arquesporial, antes de entrar em pré-meiose, sofre mitose com gradiente de diferenciação central-acrópeta, como sugere Póznér (2001), analisando diferentes modelos de desenvolvimento do ginosporângio. Segundo esse mesmo autor, os casos de divisão mitótica de células arquesporais são raros em ginosporângios de Angiospermas, onde uma vez iniciada a prófase I meiótica, o processo torna-se irreversível.

Em *P. suberosa* o arquespório é unicelular, contrapondo o conceito adotado por Padhye e Deshpande (1960) em *P. foetida*, onde o arquespório é descrito como contendo duas a quatro células hipodérmicas, sendo que apenas uma se diferenciava em célula-mãe de ginósporos. Além disso, a fase ontogenética demonstrada por esses autores não corresponde a etapa de formação do arquespório. Também, os resultados apresentados diferem do proposto por Schnarf (1931) e Johri (1992) para a família, os quais descrevem que a célula inicial arquesporial não apresenta

atividade mitótica e diferencia-se diretamente na célula-mãe de ginósporos e que a epiderme nucelar divide-se periclinalmente.

Essas variantes morfológicas denotam a necessidade de análises mais acuradas, em um número maior de espécies desta família, a fim de se estabelecer um padrão para o grupo.

As variações no desenvolvimento e formação do saco embrionário têm fornecido informações a respeito da evolução das plantas com flores (Brukhin *et al.* 2005) e até então sabe-se que os sacos embrionários originados de um único esporo podem derivar dois padrões, dependendo do número de ciclos mitóticos: o tipo *Oenothera*, formado por quatro células ao final da citocinese, e o tipo *Polygonum*, formado por sete células e oito núcleos (Maheshwari 1948) Este último é o mais comum em Angiospermas e semelhante ao encontrado em *P. suberosa*, coincidindo com o padrão descrito em outras espécies da família, como *P. adenophylla* (Cook 1909), *P. foetida* (Raju 1952, Padhye & Deshpande 1960), *P. calcarata* (Raju 1956), *P. edulis* (Souza *et al.* 2002) e *P. caerulea* (Amela García *et al.* 2003).

P. suberosa apresentou três antípodas efêmeras, com núcleos picnóticos e uma célula média com seu núcleo secundário junto ao pólo micropilar, no botão floral em pré-antese, similar aos resultados anteriores envolvendo espécies do gênero, os quais citam as antípodas como efêmeras em ginófitos maduros (Raju 1952, 1956, Souza *et al.* 2002, Amela García *et al.* 2003). Padhye & Deshpande (1960) também observaram a ocorrência das antípodas de curta existência em *P. foetida*, mas sem especificar a fase ontogenética observada do gametófito. A formação do núcleo secundário, em *P. suberosa*, é similar à encontrada em *P. caerulea* (Amela García *et al.* 2003), descrita como tardia, visto que tal processo ocorre pouco antes da fecundação pelas células gaméticas, mas difere da descrita por Souza *et al.* (2002) e Padhye & Deshpande (1960), em *Passiflora foetida*, onde os núcleos polares permanecem não-fusionados nos botões florais.

O aparelho fibrilar das sinérgides é bem desenvolvido e similar ao encontrado em *P. caerulea* (Amela García *et al.* 2003). Esses autores observaram diferenças morfológicas entre as sinérgides de um mesmo saco embrionário, onde uma delas apresenta o aparelho fibrilar mais desenvolvido que a outra, além de uma maior quantidade de retículo endoplasmático rugoso. Também foi demonstrado que apenas uma das sinérgides é penetrada durante o processo de fecundação e que essas variações podem contribuir para direcionar o tubo polínico.

O rudimento seminal é anátropo e bitegumentado, como na maioria das descrições para o gênero (Schnarf 1931, Johri 1992), exceto em *P. calcarata*, onde é ortótropo (Raju 1956). A micrópila em zig-zag é similar a encontrada por Dathan & Singh (1973), onde a endóstoma é formada por ambos os tegumentos, como consequência da maior projeção do tegumento interno na sua porção funicular, alcançando o tegumento externo

na porção oposta, enquanto que a exóstoma é formada somente pelo tegumento externo, estando com o poro micropilar voltado para a porção funicular. É diferente da encontrada por Padhye & Deshpande (1960), em *P. foetida*, onde a exóstoma é formada por ambos os tegumentos, devido a uma maior projeção do tegumento interno em sua porção funicular.

A análise dos tegumentos e seus estratos celulares tem grande importância em trabalhos taxonômicos, cujas variações têm sido identificadas em sementes de espécies do gênero *Passiflora* (Deginani 2001, Pérez-Cortez *et al.* 2002, Pérez-Cortez *et al.* 2005).

A presença de um arilo, rico em amido e lipídios, é citada para a família (Johri *et al.* 1992). No entanto, é uma estrutura da semente cujo desenvolvimento ocorre principalmente após a fecundação, como já observado em *P. suberosa* (Kloos & Bouman 1980) e em outras espécies do gênero (Raju 1952, 1956, Singh 1962, Dathan & Singh 1973). No presente trabalho, somente as primeiras divisões celulares que antecedem sua formação foram observadas.

O nucelo apresenta grande quantidade de amido durante a antese, principalmente nas camadas celulares no entorno do ginófito, e em camadas mais externas do ápice nucelar, junto a micrópila. Esse amido armazenado poderia constituir um conteúdo energético adicional que, após hidrólise, seria utilizado para o crescimento do tubo polínico ou para o desenvolvimento do embrião esporofítico após a fecundação.

O gênero *Passiflora* apresenta atualmente mais de 500 espécies descritas (MacDougal & Feuillet 2004) e seus caracteres embriológicos são pouco conhecidos. As presentes análises realizadas em *P. suberosa* permitem destacar alguns caracteres embriológicos que merecem ser comparados com os de outras espécies dos sub-gêneros ou clados da família como, por exemplo, verificar se o desenvolvimento celular pré-meiótico ocorre após a mitose da célula arqueosporial ou não; se a receptividade (i.e., maturidade) do ginófito é alcançada apenas após a abertura da flor ou não; se ocorre acúmulo de amido no nucelo ou não; se a configuração da micrópila apresenta ou não variações. A utilização desses e de outros caracteres relacionados à embriologia certamente contribuirão para reconstituir a história evolutiva do gênero.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq, pelo aporte financeiro durante o desenvolvimento da pesquisa, e à Capes, pelas bolsas de estudo concedidas.

REFERÊNCIAS

AMELA GARCÍA, M. T. A., GALATI, B. G., & ANTON, A. M. 2003. Development and Ultrastructure of the Megagametophyte in *Passiflora caerulea* L. (Passifloraceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 142: 73-81.

APG II (Angiosperm phylogeny Group II). 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families

of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141: 399-436.

BITTENCOURT JR., N. S. & MARIATH, J. E. A. 2002. Ovule ontogeny of *Tabebuia pulcherrima* Sandwith (Bignoniaceae): megasporogenesis and integument development. *Revista Brasileira de Botânica*, 25(1): 103-115.

BOUMAN, F. & CALIS, J. I. M. 1977. Integumentary shifting - A third way to unitegmy. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 90: 15-28.

BOUMAN, F. 1971. The application of tegumentary studies to taxonomic and phylogenetic problems. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 84(3-4): 169-177.

BOUMAN, F. 1984. The ovule. In: *Embryology of Angiosperms* (B.M. Johri, ed.). Berlin: Springer-Verlag. 830 p.

BRUKHIN, V., CURTIS, M. D., GROSSNIKLAUS, U. 2005. The angiosperm female gametophyte: No longer the forgotten generation. *Current Science*, 89(11): 1844-1852.

COOK, M. T. 1909. Notes on the Embryo-Sac of *Passiflora adenophylla*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 36(5): 273-274.

DATHAN, A. S. R. & SINGH, D. 1973. Development and structure of seed in *Tacsonia* Juss. and *Passiflora* L. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences*, B(77): 5-18.

DAVIS, G.L. 1966. *Systematic Embryology of the Angiosperms*. New York: John Wiley. 528 p.

DE TONI, K. L. G. & MARIATH, J. E. A. 2003. Desenvolvimento do rudimento seminal em *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. (Rubiaceae – Rubioideae – Spermacoceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 27(1): 185-192.

DEGINANI, N. B. 2001. Las espécies argentinas do gênero *Passiflora* (Passifloraceae). *Darwiniana*, 39(1-2): 43-129.

DHAWAN, K. DHAWAN, S. & SHARMA, A. 2004. *Passiflora*, a review update. *Journal of Ethnopharmacology* 94: 1-23

FEDER, N. & O'BRIEN, T. P. 1968. Plant microtechnique, some principles and new methods. *American Journal of Botany*, 55: 123-142.

FEUILLET, C. & MACDOUGAL, J. M. 2007. Passifloraceae. pp. 270-281. In: Kubitz, K. (ed.). *The families and genera of vascular plants*, v. IX. Berlin: Springer.

GEORGE, G. P. 1979. A comparative study of ovule and megagametophyte development in field-grown plants and greenhouse-grown plant of *Glycine max* and *Phaseolus aureus* (Papilionaceae). *American Journal of Botany*, 66: 1033-1043.

GERRITS, P. O. & SMID, L. 1983. A new, less toxic polymerisation system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy*, 132: 81-85.

GERSTERBERGER, P. & LEINS, P. 1978. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae) Anwendung einer neuen Präparationsmethode. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 91: 381-387.

HANSEN, A. K., GILBERT, L. E., SIMPSON, B. B., DOWNIE, S. R., CERVI, A. C. & JANSEN, R. K. 2006. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. *Systematic Botany*, 31(1): 138-150.

HOEHNE, F. C. 1922. *A flora do Brasil*. Typografia da Estatística: Rio de Janeiro. 136 p.

JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. New York: Mc Graw-Hill Book Company. 112 p.

JOHRI, B. M., AMBEGAOKAR, K. B., SRIVASTAVA, P. S. 1992. *Comparative embryology of Angiosperms*. v. 1. New York: Spring-Verlag. 1221 p.

KILLIP, E. P. 1938. *The American species of Passifloraceae*. Chicago: Field Museum Natural History Botanical Series 19. 613 p.

KLOOS, A. & BOUMAN, F. 1980. Case studies in aril development *Passiflora suberosa* L. and *Turnera ulmifolia* L. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 55: 49-66.

- MAC DOUGAL, J. M. & FEUILLET, C. 2004. In: ULMER, T. & MAC DOUGAL, J. M. (Eds.), *Passiflora. Passionflowers of the World*. Portland: Timber Press. 430 p.
- MAHESHWARI, P. 1948. The angiosperm embryo sac. *Botanical Review*, 14(1): 1-56.
- MARTIN, F. W. 1959. Staining and observing pollen tubes in styles by means of fluorescence. *Stain Technology* 34 (3): 125-128.
- MCDOWELL, E. M. & TRUMP, B. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology & Laboratory of Medicine*, 100: 405-414.
- MUSCHNER, V. C., LORENZ, A. P., CERVI, A. C., BONATTO, S. L., SOUZA-CHIES, T. T., SALZANO, F. M., FREITAS, L. B. 2003. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora* (Passifloraceae). *American Journal of Botany*, 90(8): 1229-1238.
- O'BRIEN, T. P. & McCULLY, M. E. 1981. The study of plant structure: principles and selected methods. Melbourne: Termacarphy Pty Ltd. Sass.
- PADHYE, M. D. & DESHPANDE, B. G. 1960. The male and female gametophytes of *Passiflora foetida* L. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences*, B(52): 124-130.
- PÉREZ-CORTEZ, S., ESCALA, M. & S., TILLET. 2005. Anatomía de la cubierta seminal de ocho especies de *Passiflora* L., subgénero *Passiflora*. *Acta Botánica Venezuelica*, 28(2): 337-348.
- PÉREZ-CORTÉZ, S., TILLET, S. & ESCALA, M. 2002. Estudio morfológico de la semilla de 51 especies del género *Passiflora* L. *Acta Botánica. Venezuelica*, 25(1): 67-96.
- PÓZNER, R. 2001. Approach to the early sporangial development in angiosperms considering meiosis control and cellular differentiation. *Plant Systematics and Evolution*, 230: 25-42.
- RAJU, M. V. S. 1952. Embryology of the Passifloraceae. *Current Science*, 10: 288-289.
- RAJU, M. V. S. 1956. Embryology of the Passifloraceae. I. Gametogenesis and seed development of *Passiflora calcarata* Mast. *Journal of the Indian Botanical Society*, 35: 126-138.
- RIAÑO, T. R., VALTUEÑA, F. J. & OLIVENCIA, A. O. 2006. Megasporogenesis, megagametogenesis and ontogeny of the aril in *Cytisus striatus* and *C. multiflorus* (Leguminosae: Papilionoideae). *Annals of Botany*, 98: 777-791.
- SACCO, J. C. 1980. Passifloraceae. In: Reitz, R. (ed.) *Flora ilustrada Catarinense*. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues. 130 p.
- SCHNARF, K. 1931. *Vergleichende Embryologie der Angiospermen*. Berlin. 354 p.
- SINGH, D. 1962. The structure and development of ovule and seed of *Passiflora foetida* L. *Agra University Journal of Research*, 11: 99-112.
- SOUZA, M. M., PEREIRA T. M. S., HOFFMANN, M., MELO, E. J. T. & LOURO, R. P. 2002. Embryo sac development in yellow passion-fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*; Passifloraceae). *Genetics and Molecular Biology*, 23: 469-473.
- TOBE, H., STUESSY, T. F., RAVEN, P. H. & OGNUMA, K. 1993. Embryology and karyomorphology of Lactoridaceae. *American Journal of Botany*, 80(8): 933-946.
- WARMING, E. 1878. De l'ovule. *Annales des Sciences Naturelles A. Botanique*, 5: 177-266.